



بررسی ارتباط پلی مورفیسم SNP-43 از ژن Calpain-10 با دیابت شیرین

نوع دو در جمعیت آذربایجان شرقی

فاطمه بحرینی^۱، سیدمجتبی محدث اردبیلی^{۲*}، صفر فرج نیا^۳، جلال قره سوران^۴، ایرج نبی پور^۴،
علیرضا سلطانیان^۵، اکبرعلی عسکرزاده^۶

^۱ گروه ژنتیک انسانی، پژوهشکده ابن سینا

^۲ گروه بیوشیمی و آزمایشگاه‌های بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

^۳ گروه سلولی و مولکولی، مرکز پشمینه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

^۴ مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

^۵ گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشکده علوم پزشکی همدان

^۶ گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

چکیده

زمینه: جستجوی گسترده ژنوم جهت یافتن استعداد ژنتیکی ابتلاء به دیابت نوع ۲ در جمعیت‌های مختلف، تاکنون نتایج متفاوتی را در برداشته است. اخیراً Calpain10 به عنوان یک ژن مستعدکننده ابتلاء به دیابت نوع ۲ در ناحیه NIDDM1 شناخته شده است. هدف از این مطالعه تعیین ارتباط پلی مورفیسم اینترون ۳ (SNP-43) از ژن calpain10 با بیماری دیابت نوع ۲ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی ۱۰۲ فرد دیابتی و ۱۰۰ فرد سالم در استان آذربایجان شرقی بررسی گردید. ژنوتیپ‌های مختلف این پلی مورفیسم از ژن calpain10 با استفاده از روش PCR-RFLP تعیین شد و از آزمون مجذور کای و رگرسیون لجستیک برای تحلیل داده‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها: توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم ژن calpain10 در گروه کنترل برای ژنوتیپ‌های A/A، G/G، A/G به ترتیب ۱۱ (۱۱ درصد)، ۸۶ (۸۶ درصد) و ۳ (۳ درصد) بود. توزیع ژنوتیپ‌ها در گروه بیمار ۷ (۹/۶ درصد)، ۹۵ (۹۳/۱ درصد) و صفر بود. فراوانی آلل G در بین افراد بیمار نسبت به افراد سالم اختلاف معناداری را نشان می‌داد ($P=0/037$).

نتیجه‌گیری: از آنجا که داشتن آلل G ریسک فاکتور ابتلاء به دیابت نوع دو در نظر گرفته شده است، لذا می‌توان گفت که پلی مورفیسم ۴۳ از ژن calpain10 در جمعیت آذربایجان شرقی ارتباط معناداری با بیماری دیابت نوع دو دارد.

واژگان کلیدی: Calpain10، SNP43، دیابت نوع ۲، PCR-RFLP، آذربایجان شرقی

دریافت مقاله: ۸۹/۶/۱- پذیرش مقاله: ۸۹/۷/۶

* تبریز، خیابان گلگشت، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی

مقدمه

دیابت یک بیماری هتروژن و متابولیک است که با افزایش سطح قندخون بروز می‌کند و در صورت عدم درمان منجر به کوری، بیماری کلیوی و قلبی، سکته مغزی، قطع پا و کاهش امید به زندگی در بیماران می‌شود (۱). بیماری دیابت شایع‌ترین بیماری در جهان می‌باشد (۲) که در اثر کمبود و یا نبود انسولین و یا اختلال عملکردی انسولین به وجود می‌آید (۳) و شیوع آن در حال افزایش است (۴-۶).

بیماری دیابت هزینه سنگینی را بر جوامع بشری تحمیل می‌کند (۶ و ۷). در سال ۱۹۹۰، ۷/۹۷ میلیون سال عمر از دست رفته به علت مرگ و ناتوانی به دلیل دیابت بوده است (۸). چنانچه اقدامات پیشگیری‌کننده در این مورد مدنظر قرار نگیرد، میزان شیوع جهانی بیماری در کمتر از ۳۰ سال آینده به بیش از ۳۶۶ میلیون نفر خواهد رسید (۹). دیابت شیرین نوع دو، یکی از انواع بیماری دیابت بوده و از شایع‌ترین بیماری‌ها در جمعیت‌های انسانی است (۵، ۹-۱۱). در بروز دیابت شیرین نوع دو عوامل ژنتیکی دخیل هستند (۱۱ و ۱۲)، و مطالعات اخیر نشان داده‌اند که گوناگونی در ژن Calpein-10، منجر به دیابت نوع ۲ می‌شود (۱، ۱۳ و ۱۵). ژن Caplein-10 یا به عبارتی CAPN 10 واقع بر روی کروموزوم 2q37.3، نخستین ژن کاندید برای دیابت نوع ۲ می‌باشد که به واسطه غربال‌گری وسیع ژنوم، شناسایی شد (۱۵). ژن Caplein-10 یکی از ژن‌های مستعد کننده ابتلاء به دیابت نوع ۲ با سن شروع در میانسالی است (۱). ژن Caplein-10 یکی از اعضای خانواده پروتئازهای درون سلولی است. این آنزیم‌ها برای عملکردهای متعدد سلولی ضروری می‌باشند به طوری که مستقیماً فعالیت و ساختار سایر

پروتئین‌ها را تعدیل (Modulate) می‌کند (۱۷). در خصوص همبستگی SNP43 از ژن Calpain-10 مطالعات متعددی انجام شده است (۲۶-۱۸) که از نظر وضعیت‌های اقلیمی- نژادی شباهتی به جمعیت شمال غرب ایران نداشته و علاوه بر آن نتایج متفاوتی نیز از لحاظ همبستگی با دیابت نوع دو را نشان داده‌اند. لذا در این مطالعه بر آن شدیم که با انجام یک مطالعه مورد-شاهدی رابطه بین پلی‌مورفیسم SNP-43 و دیابت نوع دو را در جمعیت شمال غرب ایران مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش کار

در این مطالعه مورد شاهدی ۱۰۲ فرد بیمار دیابتی و ۱۰۲ فرد سالم به شیوه نمونه‌گیری چند مرحله‌ای، بررسی گردید که به دلیل از دست دادن اطلاعات دو نفر از افراد گروه کنترل، تجزیه و تحلیل براساس نتایج ۱۰۰ فرد سالم انجام گرفت. معیارهای ورود افراد به مطالعه برای گروه مورد شامل کسانی است که در محدوده سنی ۴۰ تا ۷۰ سال هستند و دارای دیابت شیرین نوع دو برحسب تشخیص توسط پزشک متخصص غدد با توجه به معیارهای ADA (معیارهای انجمن دیابت آمریکا) بدون توجه به وضعیت کنترل سطح قندخون، داروی مصرفی و وجود عوارض می‌باشند. معیارهای خروج افراد از گروه فوق‌الذکر عبارتند از: سن کمتر از ۴۰ سال و بیشتر از ۷۰ سال، انواع دیگر دیابت (دیابت تیپ یک و انواع اختصاصی آن) برحسب معیارهای بالینی، وابستگی به گروه‌های قومیتی غیرآذری برحسب اظهارات خود فرد، وجود هرگونه سابقه رادیاسیون- شیمی درمانی (کارکنان تأسیسات رادیوتراپی، رادیولوژی و طب هسته‌ای) و

از زوج پرایمرهای اختصاصی، PCR انجام شد. توالی پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر پلی مورفیسم اینترون ۳ ژن calpain10 عبارتند از:

پرایمر forward 5'-

CACGCTTGCTGTGAAGTAATGC-3'

پرایمر Reverse 5'-

CTCTGATTCCCATGGTCTGTAG-3'

تنظیم دستگاه ترموسایکلر برای تکثیر توالی پلی مورفیک اینترون ۳ ژن calpain10 به ترتیب زیر انجام گرفت:

مرحله اول: دناتوراسیون ابتدایی با دمای ۹۴ به مدت ۴ دقیقه.

مرحله دوم: شامل ۳۵ سیکل است و هر سیکل از سه بخش زیر تشکیل می شود:

الف - denaturation با دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه.

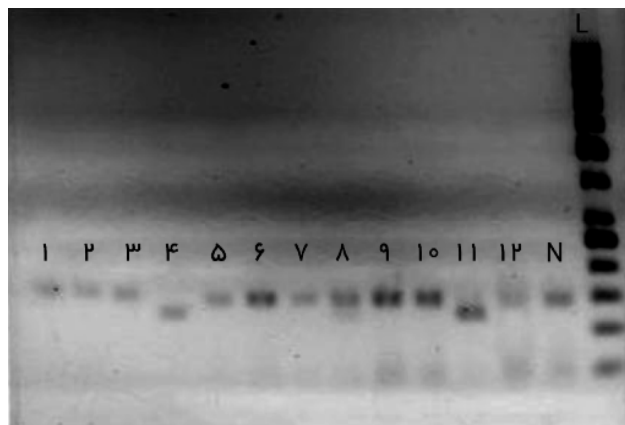
ب - annealing با دمای ۵۹ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه.

ج - extention با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه.

مرحله سوم: extention نهایی با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه.

سپس محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۲ درصد برده شد و برای رنگ آمیزی از اتیدیوم بروماید استفاده شد، تا از تکثیر قطعه مورد نظر اطمینان حاصل گردد. محصول PCR bp-۱۴۴ در دمای ۳۷ درجه به مدت ۱۵ تا ۱۸ ساعت تحت تأثیر آنزیم Nsi-I قرار گرفته و محصول حاصل از این مرحله بر روی ژل آگاروز ۲ درصد برده شد. افراد هموزیگوت با ژنوتیپ GG پس از RFLP به صورت محصول 144-bp PCR باقی می ماندند. اما از هموزیگوت های AA دو قطعه ۱۲۱bp و ۲۳bp حاصل می شود. این محصولات پس

یا وجود سرطان شناخته شده، وجود هرگونه اختلال ژنتیکی شناخته شده در فرد، بیماران دارای سندرم کوشینگ - آکرومگالی و بیماری های پانکراس. در گروه شاهد معیارهای ورود به مطالعه شامل افراد بالای ۴۰ و زیر ۷۰ سال، عدم وجود سابقه هرگونه دیابت در خود فرد و یا بستگان درجه اول او، داشتن قندخون ناشتا و تست تحمل گلوکز طبیعی. در همین گروه معیارهای خروج از مطالعه عبارتند از: سن کمتر از ۴۰ سال و بیشتر از ۷۰ سال، وابستگی به گروه های قومیتی غیرآذری برحسب اظهارات خود فرد، وجود هرگونه سابقه رادیاسیون - شیمی درمانی (کارکنان تأسیسات رادیوتراپی، رادیولوژی و طب هسته ای) و یا وجود سرطان شناخته شده، وجود هرگونه اختلال ژنتیکی شناخته شده در فرد. همچنین زنان باردار از مطالعه خارج شده اند. افراد گروه کنترل از نظر سن و جنس با گروه دیابتی همانند انتخاب شدند. بیماران از بین مراجعه کنندگان معرفی شده از سوی متخصصان داخلی استان و افراد سالم، از بین افراد سالم مراجعه کننده به آزمایشگاه استان آذربایجان شرقی انتخاب شدند. از افراد هر دو گروه برای انجام نمونه گیری رضایت نامه دریافت شد. برای استخراج DNA از نمونه خون محیطی استفاده شد و DNA به روش نمک اشباع استخراج گردید و برای تعیین غلظت DNA استخراج شده از اسپکتروفتومتر و تعیین جذب نوری (OD) ۲۶۰/۲۸۰ استفاده گردید که در نمونه های این تحقیق میزان آن ۱/۴ تا ۱/۸۵ بود. برای بررسی پلی مورفیسم اینترون ۳ ژن calpain10 از روش PCR-RFLP استفاده گردید. بعد از بهینه سازی PCR، با استفاده از ۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNA، ۱ واحد تک پلیمرز، ۲ میکرومولار MgCl₂، ۰/۲ میلی مولار از هر یک از dntpها و ۰/۵ میلی مولار



شکل (۲) الکتروفورز محصول حاصل از هضم آنزیمی بر روی ژل آگاروز ۲ درصد نمونه‌های شماره ۴ و ۱۱ هموزیگوت‌های A/A و سایر باندها هموزیگوت‌های G/G می‌باشند. L نشانگر استاندارد وزن مولکولی DNA است. باند پایین ژل پرایمردایمر می‌باشد.

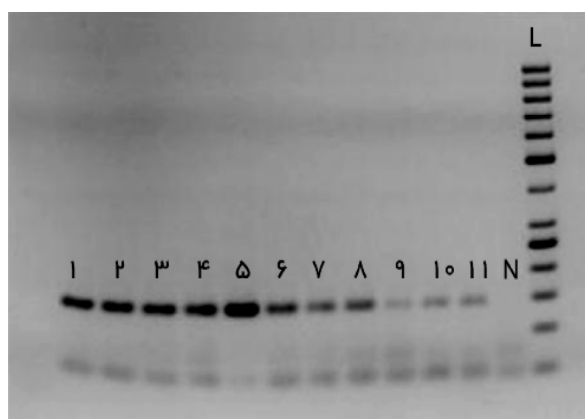
فراوانی هموزیگوسیتی برای آلل A (ژنوتیپ A/A) در بین افراد دیابتی و غیردیابتی به ترتیب برابر با صفر و ۳ نفر، فراوانی هموزیگوسیتی برای آلل G (ژنوتیپ G/G) در بین بیماران و افراد سالم نیز به ترتیب برابر با ۷ و ۱۱ نفر بود. در این مطالعه مشاهده شد که فراوانی هتروزیگوسیتی (ژنوتیپ A/G) در بین افراد دیابتی و غیردیابتی به ترتیب برابر با ۹۵ و ۸۶ نفر است. فراوانی آلل A در گروه بیماران ۷ و در گروه کنترل ۱۷ بود. فراوانی آلل G در گروه بیماران ۱۹۷ و در گروه کنترل ۱۸۳ بود. در این مطالعه براساس مطالعات هوریکاوا (۳۹) و گارانت (۳۱) که در دو جمعیت آمریکایی‌های مکزیک‌تبار و آمریکایی‌های آفریقایی‌تبار انجام شد، داشتن آلل G را عامل خطر (Risk factor) محسوب کرده‌ایم و در این مطالعه مشاهده گردید که بین توزیع آلل‌های A و G در گروه بیماران و کنترل تفاوت معنادار آماری مشاهده شد ($P=0.037$; $6/45$ و $1/06$) (۹۵ درصد CI و $OR=2/61$).

به عبارت دیگر می‌توان گفت بیماری دیابت با آلل G همبستگی دارد. در مطالعه حاضر از بین متغیرهای اندازه‌گیری شده فردی (سن، جنس، شاخص توده

از Run بر روی ژل آگاروز ۲ درصد، به وسیله ترانسلومیناتور UV مشاهده شد. اطلاعات به دست آمده از طریق نرم افزار SPSS (SPSS Inc, Chicago IL) پیرایش ۱۳، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف اینترون ۳ در نمونه‌های مورد و شاهد از آزمون مجذور کای و رگرسیون لجستیک استفاده شد و p-value کوچکتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر، ابتدا ۱۰۲ فرد دیابتی (که نتیجه آزمایش تست تحمل گلوکز آنان مثبت بود) و سپس ۱۰۲ فرد سالم (که نتیجه آزمایش تست تحمل گلوکز آنان منفی بود) از نظر سن و جنس همسان شدند. اطلاعات دو نفر از افراد گروه کنترل در طول مطالعه از دست رفت که نهایتاً تحلیل براساس ۱۰۰ فرد سالم انجام پذیرفت. نتایج به دست آمده در خصوص محصول PCR تکثیر یافته اینترون ۳ ژن calpain10 در ژل آگاروز ۲ درصد در شکل (۱) و محصول حاصل از تجزیه آنزیمی بر روی ژل آگاروز ۲ درصد در شکل (۲) نشان داده شده است.



شکل (۱) الکتروفورز محصول PCR ۱۴۴ جفت‌بازی برای تکثیر SNP-43 اینترون ۳ از ژن calpain10 بر روی ژل آگاروز ۲ درصد. در شماره ۱ تا ۱۱ وجود باند نشان‌دهنده تکثیر SNP-43 اینترون ۳ از ژن calpain10 می‌باشد و N نشان‌دهنده نمونه کنترل منفی و L نشانگر استاندارد وزن مولکولی DNA است. باند پایین ژل پرایمردایمر است.

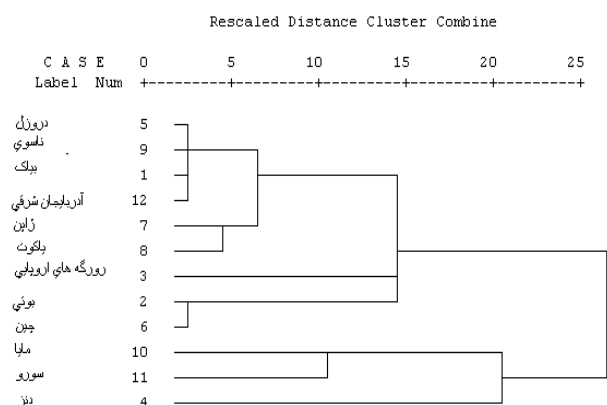
با استفاده از تحلیل خوشه‌ای (Cluster Analysis) مشاهده شد که فراوانی آلل G در آذربایجان شرقی همانند جمعیت‌های Biak, Druzel, Nasioi, Yakut و ژاپن می باشد (جدول ۳).

جدول ۳) گروه‌بندی ۱۲ جمعیت مختلف جهان برحسب فراوانی آلل‌های G و A از SNP43 با استفاده از آنالیز خوشه‌ای

گروه اول	گروه دوم	گروه سوم	گروه چهارم	گروه پنجم
Biak	Mbuti	Maya	Mixed Eur.	Danes
Druzel	Chinese	Surui	-	-
Japan	-	-	-	-
Yakut	-	-	-	-
Nasioi	-	-	-	-
آذربایجان شرقی	-	-	-	-

دندروگرام تحلیل خوشه‌ای (نمودار ۱)، نحوه خوشه‌بندی ۱۲ جمعیت مورد بررسی از لحاظ فراوانی آللی (آلل‌های G و A) را نشان می‌دهد.

Dendrogram using Single Linkage



نمودار ۱) دندوگرام آنالیز خوشه‌ای برحسب آلل G از SNP43 در ۱۲ جمعیت مختلف جهان

بحث

با وجود مطالعات گسترده روی پلی مورفیسم‌های شایع ژن calpain10 مانند SNP-44، SNP-63 و ایترون ۳ (SNP-43) نقش این پلی مورفیسم‌ها هنوز در جمعیت‌های مختلف بحث‌برانگیز است. Calpain10

بدنی، تری‌گلیسیرید، کلسترل تام، کلسترل LDL و HDL)، تنها متوسط TG در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$).

۱) مشخصه‌های فردی شرکت‌کنندگان در مطالعه به تفکیک دو گروه مورد و شاهد در آذربایجان شرقی

متغیرها	مورد	شاهد	P.value
تعداد شرکت کنندگان (نفر)	۱۰۲	۱۰۰	-
سن (سال)	۵۵/۵۱±۷/۳۵	۵۴/۶۶±۸/۶۴	۰/۲۶۸
جنس (مرد) درصد	۵۰/۵	۴۹/۵	>۰/۰۵
تحصیلات (کمتر از دیپلم) درصد	۷۴/۵	۷۳/۶	۰/۸۹
درآمد (کمتر از ۲۵۰۰۰۰ ریال)	۲۶/۵	۳۳/۳	۰/۰۸۱
BMI(kg/m ²)	۲۷/۷±۴/۴	۳۱/۵۵±۶/۹	۰/۲۴
کلسترول تام (mmol/l)	۲۲۵/۱۲±۴۷/۰۴	۱۹۲/۵۷±۴۴/۸۸	۰/۱۶۷
LDL(mmol/l)	۱۶۸/۵۴±۱۹/۶	۱۳۶/۲۵±۱/۷۳	۰/۰۹
HDL(mmol/l)	۴۴/۶۳±۷/۳۳	۵۳/۴۰±۱۳/۸۶	۰/۱۵۱
TG(mmol/l)	۲۲۸/۰۴±۶۱/۷۸	۱۴۹/۹۴±۵۱/۲۶	۰/۰۱

*اعداد به صورت، انحراف معیار ± میانگین بیان شده‌اند.

جمعیت آذربایجان شرقی از نظر توزیع فراوانی آلل G و A با سایر جمعیت‌ها مقایسه شده که نتایج آن در جدول (۲) نشان داده شده است.

جدول ۲) توزیع آلل‌های SNP43 از ژن Calpain10 در ۱۲ جمعیت‌های مختلف از پنج قاره زمین

منطقه	جمعیت	آلل‌های SNP43
		A
		G
آفریقا	Biak(n=138)	۰/۹۱
	Mbuti(n=70)	۰/۹۷
	Mixed Europeans(n=180)	۰/۸۰
اروپا	Danes(n=98)	۰/۶۳
	Druzel(n=126)	۰/۹۰
	Chinese(n=110)	۰/۹۷
آسیا	Japan(n=72)	۰/۸۷
	Yakut(n=98)	۰/۸۵
	Nasioi(n=44)	۰/۹۰
اقیانوسیه	Maya(n=94)	۰/۶۹
	Surui(n=92)	۰/۷۳
	آذربایجان شرقی (n=202)	۰/۹۲

اولین ژن مستعد دیابت نوع ۲ بود که از طریق لینکاژ در جمعیت هیسپانیک (Hispanic) ایالت تکزاس شناسایی شد (۲۲). مطالعه حاضر نشان داد که در جمعیت آذربایجان شرقی وجود آلل G، خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ را در مقایسه با آلل A، به طور معنی داری افزایش می دهد ($P < 0.05$). این نتیجه همانند نتایج حاصل از مطالعات هوریکاکاوا بود (۱، ۱۸ و ۲۱). ولی این نتایج با مطالعاتی که بر روی جمعیت انگلستان (۱۴)، جمعیت قفقازی (۲۰) و جمعیت قفقازی جنوب شرقی هلند (۲۴) انجام شد، در تضاد بود. یک علت محتمل در ایجاد چنین تفاوت هایی ممکن است به خاطر نوع مطالعات انجام شده و وابسته بودن پلی مورفیسم به نژاد و موقعیت جغرافیایی باشد. در گذشته برخی از مطالعات به صورت مورد-شاهدی و برخی دیگر به صورت مقطعی انجام شده است. یکی از نقاط قوت این مطالعه، مورد-شاهدی (Case-Control) بودن آن است که نسبت به مطالعات مقطعی (Cross-sectional)، وجود یا عدم وجود همبستگی را قوی تر نشان می دهد. همچنین در مطالعه حاضر اگرچه افراد با ژنوتیپ G/G، ۲/۲۱ برابر افرادی که حداقل یک آلل A (A/A or A/G) داشتند در معرض خطر دیابت نوع ۲ قرار داشتند، ولی این میزان از لحاظ آماری معنی دار نبود. چنین نتیجه ای در مطالعه مالکی (۲۴) نیز دیده شد.

نتایج به دست آمده در خصوص وجود همبستگی بین ژنوتیپ های SNP43 از ژن Calpain10 با صفات فردی اندازه گیری شده مانند سن، جنس، کلسترل و غیره. در مطالعه حاضر همانند مطالعه گارانت (۲۱) به جز تری گلیسیرید، هیچ کدام از آنها با ژنوتیپ های SNP43

همبستگی نداشتند. اگر در مطالعه حاضر افراد مورد و شاهد را بتوان مجموعاً به عنوان یک نمونه از جمعیت مورد بررسی در نظر بگیریم، آنگاه مشاهده می شود که فراوانی آلل G در جمعیت مورد بررسی از متوسط ۵ قاره کره زمین بالاتر است (۰/۹، جدول شماره ۲). با توجه به فراوانی آلل G و A در جمعیت های مختلف (جدول شماره ۲) و با استفاده از آنالیز خوشه ای (Cluster Analysis) مشاهده می شود که فراوانی آلل G در آذربایجان شرقی همانند جمعیت های Biak، Druzel، Nasioi، Yakut و ژاپن است (جدول ۳). در مطالعه حاضر امکان بررسی چند SNP از ژن Calpain10 و به تبع آن بررسی هاپلوتایپ ها وجود نداشت که توصیه می شود در مطالعات آینده به آن توجه شود. در این مطالعه تنها امکان انجام پژوهش بر روی جمعیت آذربایجان شرقی فراهم بود و توصیه می شود طی مطالعه ای در آینده فراوانی آلل G در سطح کشور ایران و در جمعیت های مختلف بررسی و ارتباط آن با دیابت نوع ۲ مورد ارزیابی قرار گیرد.

با توجه به یافته های این تحقیق فراوانی آلل G در افراد گروه بیمار (۱۹۷ نفر) بیشتر از گروه کنترل (۱۸۳) بود ($P = 0.031$). با توجه به نتایج این تحقیق، آلل G از پلی مورفیسم SNP43 در جمعیت آذربایجان شرقی به عنوان یک فاکتور مستعد کننده به دیابت نوع ۲ لحاظ می شود.

تشکر و قدردانی

از کلیه کارشناسان مرکز تحقیقات پشیمه دانشگاه علوم پزشکی تبریز، آزمایشگاه مرکزی استان آذربایجان شرقی

و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه

علوم پزشکی بوشهر نهایت قدردانی را داریم.

References:

- Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, et al. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* 2000; 26: 163-75.
- Esteghamati A, Gouya MM, Abbasi M, et al. Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in the adult population of Iran: National Survey of Risk Factors for Non-Communicable Diseases of Iran. *Diabetes Care* 2008; 31: 96-8.
- DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev* 1997; 5: 178-269.
- Delavari AR, Mehdi-Hazaveh A, Norouzinejad A, et al. Prevention and control programming of diabetes disease, in Nurse and Diabetes. Tehran Ministry of Health 2005; 2: 11-2.
- King H, Aubert R, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21: 1414-31.
- Songer TJ, Ettaro L. Studies on the cost of Diabetes. Centers for Disease Control and Prevention. (Accessed in Dec 22, 2011 at <http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/costs/index.htm>).
- Amini M, Khadivi R, Haghighi S. Costs of type 2 Diabetes in Isfahan-Iran in 1998. *IJEM* 2002; 4: 97-104.
- Jonson B. The economic impact of diabetes. *Diabetes Care* 1998; 5: 712-8.
- Meetoo D, McGovern P, Safadi R. An epidemiological overview of diabetes across the world. *Br J Nurs* 2007; 16: 1002-7.
- Foliaki S, Pearce N. Prevalence and causes of diabetes in Pacific people. *Pac Health Dialog* 2003; 10: 90-8.
- Rich SS, Bergman RN. The genetic basis of glucose homeostasis. *Curr Diabetes Rev* 2005; 1: 221-6.
- Lindgren CM, McCarthy MI. Mechanisms of Disease: genetic insights into the etiology of type 2 diabetes and obesity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; 4: 156-63.
- AlSaraj F, O'Gorman D, McAteer S, et al. Haplotype association of calpain 10 gene variants with type 2 diabetes mellitus in an Irish sample. *Ir J Med Sci* 2010; 179: 269-72.
- Evans JC, Frayling TM, Cassell PG, et al. Studies of Association between the Gene for Calpain-10 and Type 2 Diabetes Mellitus in the United Kingdom. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 544-52.
- chen SF, Lu XF, Yan WL, et al. Variations in the calpain-10 gene are associated with the risk of type 2 diabetes and hypertension in northern Han Chinese population. *Chin Med J* 2007; 120: 2218-23.
- Song Y, Niu T, manson JE, et al. Are Variants in the CAPN10 Gene Related to Risk of Type 2 Diabetes? A Quantitative Assessment of Population and Family-Based Association Studies. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 208-22.
- Sorimachi H, Ishiura S, Suzuki K. Structure and physiological function of calpains. *Biochem J* 1997; 328: 721-32.
- Cassell PG, Jackson AE, North BV, et al. Haplotype combinations of calpain-10 gene polymorphisms associate with increased risk of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in South Indians. *Diabetes* 2002; 51: 1622-8.
- Cox NJ, Hayes MG, Roe CA, et al. Linkage of Calpain-10 to Type 2 Diabetes: The Biological Rationale. *Diabetes* 2004; 53: S19-S25.
- Elbein SC, Chu W, Ren Q, et al. Role of calpain-10 gene variants in familial type 2 diabetes in Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 650-4.
- Garant MJ, Kao WH, Brancati F, et al. SNP43 of CAPN10 and the risk of type 2 diabetes in African-Americans: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes* 2002; 51: 231-7.
- Hanis CL, Boerwinkle E, Chakraborty R, et al. A genome-wide search for human non-insulin-dependent (type 2) diabetes genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 2. *Nat Genet* 1996; 13: 161-6.
- Lynn S, Evans JC, White C, et al. Variation in the calpain-10 gene affects blood glucose levels in the British population. *Diabetes* 2002; 51: 247-50.
- Malecki MT, Moczuski D, Klupa T, et al. Homozygous combination of calpain-10 gene haplotypes is associated with type 2 diabetes mellitus in a polish population. *European J Endocrinology* 2002; 146: 695-9.
- Orho-Melander M, Klannemark M, Svensson MK, et al. Variants in the calpain-10 gene predispose to insulin resistance and elevated free fatty acid levels. *Diabetes* 2002; 51: 2658-64.
- Stumvoll M, Fritsche A, Madaus A, et al. Functional significance of the UCSNP-43 polymorphism in the CAPN10 gene for proinsulin processing and insulin secretion in nondiabetic Germans. *Diabetes Care* 2001; 50: 2161-3.

Original Article

A study on association of SNP-43 polymorphism in Calpain-10 gene with type 2 diabetes mellitus in the population of Eastern Azerbaijan province

F. bahreini¹, SM. Mohaddes Ardebili^{2*}, S. Farajnia³, J. Ghareh Sooran², I. Nabipour⁴,
AR. Soltanian⁵, AL. Askarzadeh⁶

¹ Department of Human Genetics, Ebn-e-Sina Institute, Tabriz, IRAN

² Department of Biochemistry and clinical Laboratory, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, IRAN

³ Department of cellular and Molecular, Pashmineh Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, IRAN

⁴ The Persian Gulf Marine Biotechnology Research, The Persian Gulf Biomedical Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN

⁵ Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, IRAN

⁶ Department of Internal Diseases, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, IRAN

(Received 23 Aug, 2010 Accepted 28 Sep, 2010)

Abstract

Background: Genome – wide analysis of genetic predisposition to type 2 diabetes mellitus in different populations have yielded variable results. Calpain10, a gene that encodes a non-lysosomal cysteine protease, has been recently proposed as a type 2 diabetes susceptibility genes in the non-insulin-dependent diabetes mellitus NIDDM1 region. Aim of the study is to evaluate the relation between SNP43 and type2 diabetes.

Methods: A total of 102 diabetic subjects and 100 undiabetic controls enrolled in a case-control study in Eastern Azerbaijan Azerbaijan Province. The polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism technique (PCR-RFLP) was applied. We use X² test and logistic regression to analysis of data.

Results: Genotypes distribution of calpain10 gene in control group were 11(11%), 86(86%) and 3(3%) with respected to A/G, G/G and A/A genotypes, respectively. In diabetic group genotypes distribution were 7(6.9%), 95(93.1%) and zero, respectively. The G allele frequency was significant difference in case and control groups.

Conclusion: Since G allele is a risk factor to affect type 2 diabetes disease; hence SNP43 of calpain10 gene had significant association with type 2 diabetes in Eastern Azerbaijan.

Keywords: calpain10, SNP43, type 2 diabetes, PCR-RFLP, eastern Azerbaijan

*Address for correspondence: Department of veterinary medicine, Young Researches Club, Islamic Azad university, Shahrekord Branch, Sharekord, IRAN; E-mail: momohaddes@yahoo.com